基于质体基因组学方法研究广义玄参科的系统发育

王雪芹[1]，宋卫武[2*]，马飞龙[3]，高文静[1]，赵妍[1]

（1. 周口师范学院 生命科学与农学学院，河南 周口 466001；2. 周口师范学院 化学化工学院，河南 周口，466001；3. 周口师范学院植物遗传与分子育种重点实验室，河南 周口，466001 ）

摘 要：本研究利用 GenBank 数据库已公开发表的玄参科及相关类群的 107 属 129 个物种的质体基因组数据对广义玄参科的系统发育关系进行了分析。利用蛋白质编码基因，我们构建了矩阵，并采用最大似然法及贝叶斯推断重建系统发育树。基于两种分析方法，我们获得了拓扑结构完全一致的系统发育树，系统发育树的分辨率及支持率高。在 ML 树中，总分支数为 129 个，其中支持率≥70%的分支数目为 123 个。系统发育树结果表明，（1）广义玄参科不是一个单系类群，隶属于广义玄参科的 51 个物种（37 属）分散于列当科、泡桐科、美丽桐科、通泉草科、母草科、狭义玄参科和车前科。（2）狭义玄参科为单系类群，除原隶属于广义玄参科的 *Bontia*、*Calamphoreus*、*Diocirea*、*Eremophila*、*Glycocystis*、*Leucophyllum*、玄参属和毛蕊花属外，还包括了原隶属于马钱科的醉鱼草属和原隶属于苦槛蓝科的苦槛蓝属。（3）唇形目为一个单系，目下共形成了 14 个支持率高的单系分支，对应于 14 个科（其中美丽桐科和胡麻科仅包括一个物种，不包括在内），科间关系得到较好的解决，木犀科为最早分化出来的类群，其余的类群共同组成核心唇形目，在核心唇形目中，类群分化的次序依次为苦苣苔科、车前科、玄参科和母草科，其余的科聚成两个大的分支，其中一个大分支包括 5 个科，紫葳科、马鞭草科和胡麻科形成中等支持率的一个亚支，其中紫葳科、马鞭草科为姐妹群；爵床科和狸藻科亦形成中等支持率的一个亚支；另一个大分支包括了 6 个科，类群分化的次序依次为唇形科、通泉草科、美丽桐科+透骨草科，泡桐科和列当科为姐妹群，为较进化的类群。我们的研究结果表明，传统意义上的玄参科不是一个自然类群，其包括的种属分散于唇形目；质体基因组适用于解决广义玄参科的系统发育关系，有待于扩大样本进一步研究。

关键词：广义玄参科，系统发育基因组，质体，唇形目

Phylogeny of Scrophulariaceae sensu lato based on Plastid genome

WANG Xueqin[1], SONG Weiwu[2*], MA Feilong[3], GAO Wenjing[1], ZHAO Yan[1]

（1. *College of Life Science and Agronomy, Zhoukou Normal University*, Zhoukou 466001, Henan, China; 2. *School of Chemistry & Chemical Engineering, Zhoukou Normal University*, Zhoukou 466001, Henan, China 3. *Key Laboratory of Plant Genetics and Molecular Breeding, Zhoukou*

基金项目：国家自然科学基金（81803388）；河南省重点研发与推广专项项目（182102310617）；河南省科技攻关项目（212102110142）[Supported by National Natural Science Foundation of China（81803388）; Key Research Program of Henan Province（182102310617）; Department of Science and Technology Planning Project of Henan Province（212102110142）]。

第一作者：王雪芹（1986-），博士，讲师，主要从事植物系统进化方面工作，（E-mail）wangxueqin0218@163.com。

***通信作者：**宋卫武，博士，讲师，研究方向为植物化学，（E-mail）wwsong@zknu.edu.cn。

Normal University, Zhoukou 466001, Henan, China）

Abstract: Phylogenetic relationships of Scrophulariaceae s. l.（sensu lato） and the closely related groups were explored with 129 plastid genomes representing 107 genera. Plastome sequences were downloaded from the GenBank. Based on coding sequences (CDS), phylogenetic trees were reconstructed using maximum likelihood（ML）and Bayesian inference（BI） approaches. The ML and BI analyses shared the same topology and the main clades were consistently recovered with high support. Of the 129 total nodes, 123 were supported by ML bootstrap value ≥70%. The resulting phylogenies were as follows：（1）Scrophulariaceae s. l. was confirmed as polyphyletic. Fifty-one species with representatives of 37 genera from the Scrophulariaceae s.l. were assigned to seven families. These were Orobanchaceae, Paulowniaceae, Wightiaceae, Mazaceae, Linderniaceae, Scrophulariaceae s.s.（sensu stricto）, and Plantaginaceae. （2）Scrophulariaceae s.s. was a monophyletic group. In addition to the recognition of eight genera（including *Bontia*、*Calamphoreus*、*Diocirea*、*Eremophila*、*Glycocystis*、*Leucophyllum*、*Scrophularia* and *Verbascum*）comprised primarily of former members of Scrophulariaceae s.l., *Buddleja* which was originally placed in Loganiaceae, and *Myoporum*, traditionally placed in the Myoporaceae had been demonstrated to belong to this clade. （3）The Lamiales was monophyletic. Fourteen well-supported monophyletic clades were obtained corresponding to each family (Wightiaceae and Pedaliaceae for which only one species had been contained were not included). The relationships among the families were well resolved. Oleaceae formed a well-supported clade that was distinct from core Lamiales. Within the core Lamiales, four clades (Gesneriaceae, Plantaginaceae, Scrophulariaceae, and Linderniaceae) diverged before the remaining families grouping in two sister clades. Within one clade, two moderately to highly supported subclades were recovered. Lentibulariaceae was resolved as sister group to Acanthaceae, and Pedaliaceae was sister to Verbenaceae + Bignoniaceae. The other clade contained six families, with Lamiaceae, Mazaceae, Wightiaceae + Phrymaceae, and Paulowniaceae successively sister to Orobanchaceae. The results of our analyses indicate that the traditional Scrophulariaceae are an unnatural assemblage of plants distributed throughout the

phylogenentic tree of Lamiales. Phylogenomics analyses based on plastid organelle have shown good potential for phylogenetic inference in Scrophulariaceae, more taxonomic sampling are needed to enhance our understanding of phylogenetic relationships of Scrophulariaceae in future studies.

Key words: Scrophulariaceae sensu lato, phylogenomic, plastomes, Lamiales

玄参科（Scrophulariaceae）隶属于唇形目（Lamiales），全球分布。玄参科为多而杂的一个大类群，缺乏特征性性状将其与其它相关类群进行区分，基于形态的经典分类时期，分类学家们将诸多类群归于玄参科，致使玄参科一度成为唇形目中物种数目最丰富的科。而鉴定性性状的缺失也暗示了玄参科可能不是一个单系。最早的采用分子系统学研究玄参科的系统发育可以追溯至上个世纪末，Olmstead & Reeves（1995）基于两个叶绿体片段，对玄参科是否为单系进行了研究，结果表明玄参科不是一个单系类群。Olmstead 等（2001）基于三个叶绿体基因的分析结果表明，广义玄参科（Scrophulariaceae s.l.（sensu lato））至少包括了五个单系类群，即狭义玄参科（Scrophulariaceae s.s.（sensu stricto））、Veronicaceae、列当科（Orobanchaceae）、Calceolariaceae 和 Stilbaceae。更多相关研究的进行，使得广义玄参科被拆分，原本隶属于玄参科的物种并入了其它科或形成了许多小科，如 Calceolariaceae、Linderniaceae、通泉草科（Mazaceae）、列当科、泡桐科（Paulowniaceae）、Schlegeliaceae、狭义玄参科和美丽桐科（Wightiaceae）等（Oxelman et al., 2005; Rahmanzadeh et al., 2005; Tank et al., 2006; Liu et al., 2020）。

狭义玄参科可以划分为 8 个族，即 Aptosimeae、Buddlejeae、Hemimerideae、Leucophylleae、Limoselleae、Myoporeae、Scrophularieae 和 Teedieae，其中除 Scrophularieae 主要分布于北温带外，主要分布于南半球（Oxelman et al., 2005; Tank et al., 2006）。

据中国植物志英文版（Flora of China），玄参科包括约 220 属 4500 余种，我国有 61 属 681 种。中国植物志所采用的玄参科的范畴，即为上文所述广义玄参科。前人关于广义玄参科的研究多采用少数叶绿体片段，所获得的系统发育关系，部分支系的支持率不够高，如车前科（Plantaginaceae）、玄参科和紫葳科

（Bignoniaceae）的单系仅得到中等支持率支持；紫葳科、马鞭草科（Verbenaceae）、爵床科（Acanthaceae）和狸藻科（Lentibulariaceae）等的关系并没有得到很好的解决（Liu et al.，2020）等，因此有待进一步的研究。该文基于质体基因组数据，以广义玄参科及相关类群为主要研究对象，利用质体基因组数据中的蛋白质编码基因，重建其系统发育树，对原隶属于广义玄参科相关物种的归属问题进行研究，并对唇形目内部科间关系进行探讨。

1 材料与方法

1.1 研究数据

从 GenBank 数据库下载已发表的玄参科及相关类群 107 属 129 个物种的质体（包括叶绿体基因组）序列及蛋白质编码基因（coding sequence， CDS）（表 1）。物种挑选的原则为，隶属于广义玄参科的物种均包括在内；除此之外，参考已发表相关文献下载了同隶属于唇形目相关科的部分物种，包括木犀科（Oleaceae）、苦苣苔科（Gesneriaceae）、狸藻科、爵床科、胡麻科（Pedaliaceae）、马鞭草科、紫葳科、唇形科（Lamiaceae）、透骨草科（Phrymaceae）和列当科等，其中木犀科不属于核心唇形目（core Lamiales），而苦苣苔科据文献记载与广义玄参科关系较远，因而这两个科虽然已发表的物种序列较多，而本研究中下载的物种数较少，其余的科，下载的种属均较多，母草科、狸藻科等包括物种较少的原因为目前可获得已经公开发表的种属数目较少。

选择夹竹桃科（Apocynaceae）的长春花（*Catharanthus roseus*，KC561139.1）、龙胆科（Gentianaceae）的蓝玉簪龙胆（*Gentiana veitchiorum*，MG192310.1）及茜草科（Rubiaceae）的团花（*Neolamarckia cadamba*，MG572117.1）共 3 个物种，作为外类群。用 Excel 统计内类群所有物种的基因组信息，包括基因组大小及蛋白质编码基因数目。

1.2 构建矩阵

基于蛋白质编码基因，我们构建了用于后续系统发育分析的矩阵。每个物种的蛋白质编码基因按基因名称的字母进行排序，连接，采用在线软件 MAFFT version 7（https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/）（Katoh et al., 2019） 进行比对，参数设置为默认值。比对结果采用 MEGA 7.0 软件（Kumar et al., 2016）进行部

分人工校正，并对矩阵的长度、变异位点的数目等信息进行统计。

1.3 系统发育分析

基于所获得的矩阵，分别采用最大似然法（maximum likelihood, ML）及贝叶斯推断（BI）进行系统发育分析。采用 CIPRES Science Gateway （Miller et al., 2010）在线工具 RaxML ver. 8.2.12（Stamatakis, 2014）进行 RaxML 分析，选择 GTRGAMMA 模型，采用快速靴代值（rapid bootstrap）分析，重复 1 000 次（Bootstrap, BS）。采用 CIPRES Science Gateway（Miller et al., 2010）在线工具 MrBayes v 3.2.7a （Ronquist & Huelsenbeck, 2003）进行贝叶斯推断分析，选择 GTR+GAMMA 模型。BI 分析的参数设置如下：采用 MCMC（Markov chain monte carlo）算法，运行 1 000 000 代，每 1 000 代取样一次，开始的 25%样本作为老化样本（Burn-in samples）舍弃，以剩余样本构建主要规则一致树，并计算各分支的后验概率（posterior probability, PP）。

2 结果与分析

2.1 基因组大小

我们共下载了 132 个物种的基因组序列（包括外类群），其中 127 个为质体全基因组序列，5 个为部分基因组序列，包括 *Neobartsia inaequalis*、裸花紫珠（*Callicarpa nudiflora*）、*Calamphoreus inflatus*、*Glycocystis beckeri* 和柳穿鱼（*Linaria vulgaris*）（表 1）。这 5 个部分基因组序列中，柳穿鱼的基因组序列较短，CDS 数目仅为 13，其余 4 个物种的基因组序列较完整，CDS 数目在 82~87 之间（表 1）。质体全基因组数据中，列当科的 *Conopholis americana* CDS 数目最少为 21 个，紫葳科的 *Anemopaegma acutifolium* 具有最多的 CDS，其数目为 98。

全基因组序列中，除列当科和狸藻科之外，所有物种的基因组序列大小均在 144~168 kb 范围内。其中列当科的物种基因组大小变化幅度大，在 45~160 kb 之间，这与列当科植物的生活习性相关，其所包括的自养类群基因组较大，而寄生类群，由于其与光合作用相关的基因丢失（Cusimano & Wicke, 2016），使得其基因组较小，相应的 CDS 数目也较少。而狸藻科由于其食虫习性，*ndh* 基因丢失（Wicke et al., 2013），基因组相对于自养类群而言较小，在 140~150 kb 之间，

CDS 数目在 72~88 之间。

表 1 本研究中包括的物种，GenBanK 编号及质体基因组数据

Table 1 Samples included in study, with summary of GenBank accession number and plastome statistics

物种名称 Species name	GenBank 编号 GenBank Accession Number	序列长度 Length（bp）	蛋白质编码基因数目 Number of protein-coding genes
列当科 Orobanchaceae			
野菰 *Aeginetia indica*	MN529629.1	86 212	38
Aphyllon epigalium subsp. *notocalifornicum*	MH050786.1	103 932	36
A. fasciculatum	MH580292.1	104 153	34
Brandisia swinglei ★	MK381315.1	155 344	87
Boulardia latisquama	HG514460.1	80 361	47
Castilleja paramensis ★	KT959111.1	152 926	84
大花胡麻草 *Centranthera grandiflora* ★	MW262988.1	147 655	83
肉苁蓉 *Cistanche deserticola*	KC128846.1	102 657	31
C. phelypaea	HG515538.1	94 380	50
Conopholis americana	HG514459.1	45 673	21
Epifagus virginiana	M81884.1	70 028	25
短腺小米草 *Euphrasia regelii* ★	MK070895.1	153 026	76
Lathraea squamaria	KM652488.1	150 504	50
Lindenbergia philippensis ★	HG530133.1	155 103	85
Melampyrum koreanum ★	MW463054.1	143 865	72
山罗花 *M. roseum* ★	MN075942.1	143 896	78
Neobartsia inaequalis	KF922718	151 349	82
Orobanche austrohispanica	KT387721.1	81 994	29
O. crenata	HG515537.1	87 529	36
Pedicularis hallaisanensis ★	MG770330.1	143 469	70
P. ishidoyana ★	KU170194.1	152 571	77
Phelipanche purpurea	HG515536.1	62 891	30
P. ramosa	HG803180.1	62 304	27
Phelypaea coccinea	MK922354.1	66 616	26
松蒿 *Phtheirospermum japonicum*★	MN075943.1	153 397	86
高地黄 *Rehmannia elata* ★	KX636161.1	153 772	87
地黄 *R. glutinosa* ★	KX636157.1	153 622	87
Schwalbea americana	HG738866.1	160 910	82
阴行草 *Siphonostegia chinensis* ★	MK113828.1	148 961	85
Triaenophora shennongjiaensis ★	MH071405.1	155 319	87
Triphysaria versicolor	MN075944.1	152 583	86

泡桐科 Paulowniaceae			
Paulownia coreana ★	KP718622.1	154 545	87
毛泡桐 *P. tomentosa* ★	KP718624.1	154 540	87
透骨草科 Phrymaceae			
Erythranthe lutea	KU705476.1	153 150	84
Phryma leptostachya subsp. *asiatica*	MK381317.1	153 167	84
美丽桐科 Wightiaceae			
美丽桐 *Wightia speciosissima* ★	MK381318.1	153 621	87
通泉草科 Mazaceae			
野胡麻 *Dodartia orientalis* ★	MW238404	154 252	86
Lancea hirsuta ★	MG551489.1	154 045	83
L. tibetica ★	MF593117.1	153 665	85
通泉草 *Mazus pumilus* ★	MG642817.1	153 149	84
唇形科 Lamiaceae			
Ajuga reptans	KF709391.1	149 963	84
裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora*	MK783316.1	154 080	87
蒙古莸 *Caryopteris mongholica*	MF346535.1	151 707	86
Dracocephalum palmatum	KU958581.1	150 510	87
Galeopsis tetrahit	KY562586.1	151 690	88
Haplostachys haplostachya	KU724133.1	150 130	88
短柄野芝麻 *Lamium album*	KY562589.1	150 505	89
薰衣草 *Lavandula angustifolia*	KT948988.1	153 448	88
益母草 *Leonurus japonicus*	MG673937.1	151 610	87
欧薄荷 *Mentha longifolia*	KU956042.1	152 041	87
留兰香 *M. spicata*	MG256495.1	152 132	87
罗勒 *Ocimum basilicum*	KY623639.1	152 407	84
牛至 *Origanum vulgare* subsp. *vulgare*	JX880022.1	151 935	86
Perilla citriodora	KT220690.1	152 602	88
Phyllostegia velutina	KU724134.1	150 131	88
水虎尾 *Pogostemon stellatus*	KP718620.1	151 824	87
豆腐柴 *Premna microphylla*	KM981744.1	155 293	87
夏枯草 *Prunella vulgaris*	MG589640.1	151 342	87
迷迭香 *Rosmarinus officinalis*	NC_027259.1	152 462	86
鼠尾草 *Salvia japonica*	KY646163.1	153 995	87
丹参 *S. miltiorrhiza*	HF586694.1	151 332	88
黄芩 *Scutellaria baicalensis*	MF521632.1	151 824	87
Stachys byzantina	KU724141.1	149 749	88
Stenogyne bifida	KU724132.1	150 129	88
柚木 *Tectona grandis*	HF567869.1	153 953	88
Teucrium mascatense	MH325132.1	150 499	88
紫葳科 Bignoniaceae			
Adenocalymma pedunculatum	MG008313.1	158 103	85
Amphilophium carolinae	MK163625.1	163 515	97
Anemopaegma acutifolium	MF460826.1	168 987	98

Dolichandra cynanchoides	MG831874.1	158 110	85
Neojobertia candolleana	MG008316.1	158 409	85
Pleonotoma albiflora	MG831876.1	159 488	86
Tanaecium tetragonolobum	KR534325.1	153 776	79
硬骨凌霄 *Tecomaria capensis*	MG831880.1	153 263	84
马鞭草科 Verbenaceae			
Aloysia citrodora	KY085903.1	154 699	87
假连翘 *Duranta erecta*	MW525381.1	149 869	83
Glandularia tenera	MW538952.1	153 383	86
Lippia origanoides	MK248831.1	154 310	85
马鞭草 *Verbena officinalis*	MW328640.1	153 491	83
胡麻科 Pedaliaceae			
芝麻 *Sesamum indicum*	JN637766.2	153 324	87
爵床科 Acanthaceae			
穿心莲 *Andrographis paniculata*	KF150644.2	150 249	87
Aphelandra knappiae	MH909777.1	152 457	86
鳄嘴花 *Clinacanthus nutans*	MH778102.1	151 669	83
黄花恋岩花 *Echinacanthus lofouensis*	MF490441.1	151 336	85
板蓝 *Strobilanthes cusia*	MG874806.1	144 133	84
狸藻科 Lentibulariaceae			
Genlisea aurea	MF593121.1	140 010	80
Pinguicula ehlersiae	HG803178.1	147 147	72
Utricularia foliosa	KY025562.1	150 851	88
母草科 Linderniaceae			
毛叶蝴蝶草 *Torenia benthamiana* ★	MK789686.1	153 526	87
单色蝴蝶草 *Torenia concolor* ★	MK789685.1	153 853	87
玄参科 Scrophulariaceae			
Bontia daphnoides ★	MN044637.1	153 946	88
互叶醉鱼草 *Buddleja alternifolia*	MN623351.1	154 280	87
大花醉鱼草 *B. colvilei*	MH411147.1	154 225	88
Calamphoreus inflatus★	MN044643.1	151 631	86
Diocirea violacea ★	MN044644.1	151 900	86
Eremophila gibbifolia ★	MN044640.1	148 717	86
E. oppositifolia★	MN044645.1	151 715	86
Glycocystis beckeri ★	MN044639.1	151 763	86
Leucophyllum frutescens ★	MN044638.1	154 253	88
苦槛蓝 *Myoporum bontioides*	MN044642.1	151 742	86
M. laetum	MN044641.1	151 725	86
Scrophularia buergeriana ★	KP718626.1	153 631	87
齿叶玄参 *S. dentata* ★	MF861202.1	152 600	87
琴叶毛蕊花 *Verbascum chinense* ★	MT610040.1	153 618	87
紫毛蕊花 *V. phoeniceum* ★	MN893301.1	153 348	87
车前科 Plantaginaceae			
Antirrhinum majus ★	MW877560.1	152 606	85

Aragoa abietina ★	MW877561.1	150 320	85
A. cleefii ★	MW877562.1	150 285	85
假马齿苋 *Bacopa monnieri*★	MN736955.1	152 495	87
水马齿 *Callitriche palustris*	MW774642.1	150 138	88
Digitalis lanata ★	KY085895.1	153 108	85
鞭打绣球 *Hemiphragma heterophyllum* ★	MN383191.1	152 700	86
杉叶藻 *Hippuris vulgaris*	MW044609.1	152 763	88
短筒兔耳草 *Lagotis brevituba*★	MW182582.1	152 967	85
云南兔耳草 *L. yunnanensis*★	MN752238.1	152 789	86
柳穿鱼 *Linaria vulgaris*★	MT984536.1	28 450	13
Littorella uniflora★	MW877563.1	130 833	74
胡黄莲 *Neopicrorhiza scrophulariiflora*★	MK986819.1	152 642	81
沿海车前 *Plantago maritima* ★	KR297244.1	158 358	90
北车前 *P. media* ★	KR297245.1	164 130	94
Veronica nakaiana ★	KT633216.1	152 319	88
阿拉伯婆婆纳 *V. persica* ★	KT724052.1	150 198	86
爬岩红 *Veronicastrum axillare* ★	MW244757.1	152 691	85
草本威灵仙 *Ve. sibiricum* ★	KT724053.1	152 930	86
苦苣苔科 Gesneriaceae			
Boea hygrometrica	JN107811.1	153 493	85
Chirita eburnea	MF177038.1	152 963	88
木犀科 Oleaceae			
Abeliophyllum distichum	KT274029.1	155 982	87
Chionanthus parkinsonii	MG255752.1	155 436	88
Forsythia suspensa	MF579702.1	156 404	86

注：★物种隶属于广义玄参科。

Note: ★ indicate the species was originally placed in Scrophulariaceae s. l.

2.2 矩阵信息

本研究包括的 132 个物种中，CDS 数目≤50 的物种数目为 14 个，其中 13 个物种为列当科物种，其余 118 个（89.39%）物种的 CDS 数目均≥70。构建矩阵需考虑的方面有两点，一是信息位点的数目，二是缺失数据的比例。采用共享 CDS 来构建系统发育树，可以减少矩阵中缺失数据的比例，但可能导致数据量太少，可利用的信息位点数目少。前人的研究结果表明，数据量大的矩阵，相比较数据量小而缺失数据比例低的矩阵而言，虽然其包括了较高比例（80%或 90%）的缺失数据，但由于总的信息位点数目的增加，构建系统发育树时，能够较好的解决物种间的系统发育关系，包括提高系统发育树的支持率（Roure et al., 2013; Tripp et al., 2017）。因此本研究构建矩阵，利用的是物种的全部 CDS，这种方法在缺点在于比对之后的矩阵中某些物种中存在数据缺失，优点在于增加了序列的

长度。基于 CDS 所构建的矩阵，长度为 183 488bp，其中变异位点数目为 55 152（30.06%），信息位点数目为 32 932（17.95%），缺失数据比例为 60.83%。

2.3 广义玄参科的系统发育分析

基于 ML 及 BI 分析，我们较好地解决了玄参科及相关类群的系统发育关系，得到了拓扑结构稳定，且支持率高的系统发育树。支持率方面，在 ML 树中，总分支数目为 129 个，支持率（bootstrap support，BS）≥95 的分支数目为 112（86.82%），支持率≥70 的分支数目为 123（95.35%），支持率≤50 的分支数目仅为 3（2.33%），全部位于列当科内部。

拓扑结构方面，广义玄参科不是一个单系类群（图 1），隶属于广义玄参科的 51 个物种（37 属）分散于列当科、泡桐科（Paulowniaceae）、美丽桐科、通泉草科、母草科（Linderniaceae）、狭义玄参科和车前科，其中 8 属保留在狭义玄参科，29 属从广义玄参科移出。来江藤属（*Brandisia*）、火焰草属（*Castilleja*）、胡麻草属（*Centranthera*）、小米草属（*Euphrasia*）、钟萼草属（*Lindenbergia*）、山罗花属（*Melampyrum*）、马先蒿属（*Pedicularis*）、松蒿属（*Phtheirospermum*）、地黄属（*Rehmannia*）、阴行草属（*Siphonostegia*）和呆白菜属（*Triaenophora*）共 11 属从原广义玄参科移至列当科。泡桐属（*Paulownia*）从广义玄参科移出，独立为泡桐科。美丽桐属（*Wightia*）从广义玄参科移出，独立为美丽桐科。野胡麻属（*Dodartia*）、肉果草属（*Lancea*）和通泉草属（*Mazus*）从广义玄参科移出，形成通泉草科。蝴蝶草属（*Torenia*）从广义玄参科移出，并入母草科。*Antirrhinum*、*Aragoa*、假马齿苋属（*Bacopa*）、毛地黄属（*Digitalis*）、鞭打绣球属（*Hemiphragma*）、兔耳草属（*Lagotis*）、柳穿鱼属（*Linaria*）、*Littorella*、胡黄连属（*Neopicrorhiza*）、车前属（*Plantago*）、婆婆纳属（*Veronica*）、腹水草属（*Veronicastrum*）共 12 属从广义玄参科移出至车前科。

狭义玄参科为单系类群（BS=100，PP=1.00）（图 1），包括 10 属 15 个物种，除原隶属于广义玄参科的 *Bontia*、*Calamphoreus*、*Diocirea*、*Eremophila*、*Glycocystis*、*Leucophyllum*、玄参属（*Scrophularia*）和毛蕊花属（*Verbascum*）外，还包括了醉鱼草属（*Buddleja*）和苦槛蓝属（*Myoporum*）。其中醉鱼草属原隶属于马钱科（Loganiaceae），苦槛蓝属原隶属于苦槛蓝科（Myoporaceae）。

本研究中包括的物种涉及了狭义玄参科的 4 族，Buddlejeae 包括醉鱼草属两

个物种，Scrophularieae 包括玄参属两个物种和毛蕊花属两个物种，Leucophylleae 包括 *Leucophyllum* 一个物种，Myoporeae 包括了剩余的 6 属。Leucophylleae 除外（仅包括一个物种），其余 3 族均为单系（BS=100，PP=1.00），其中 Buddlejeae 和 Scrophularieae 互为姐妹群，Leucophylleae 和 Myoporeae 关系较近，为姐妹群。

2.4 唇形目内部科间系统发育关系分析

唇形目为一个单系（BS=100，PP=1.00），目下共形成了 14 个支持率高的单系分支，对应于 14 个科（其中美丽桐科和胡麻科仅包括一个物种，不包括在内）（图 1）。这 16 个科中，最先分化出来的类群为木犀科，其余的科构成核心唇形目；核心唇形目为单系（BS=100，PP=1.00），类群分化次序为苦苣苔科、车前科、狭义玄参科、母草科；其余的科形成两个支持率高的大分支（BS=100，PP=1.00），其中一个大分支包括 5 个科，紫葳科、马鞭草科和胡麻科形成中等支持率的一个分支（BS=88，PP=1.00），其中紫葳科、马鞭草科关系较近，为姐妹群；爵床科+狸藻科亦形成中等支持率的一个分支（BS=74，PP=0.99）；另一个大分支包括了 6 科（列当科、泡桐科、透骨草科、美丽桐科、通泉草科和唇形科），这一支中，最早分化出来的类群是唇形科，其次是通泉草科，继之是透骨草科+美丽桐科，列当科+泡桐科形成的姐妹群为最晚分化的类群。

3 讨论与结论

3.1 广义玄参科的多系起源及其裂解

本研究基于质体基因组数据，重建玄参科及其相关类群的系统发育关系，获得高支持率的系统发育树，结果表明广义玄参科为多系起源，其所属物种分散于列当科、泡桐科、美丽桐科、通泉草科、母草科、狭义玄参科和车前科，与前人基于叶绿体片段及核基因数据的结果基本一致（Olmstead et al., 2001; Oxelman et al., 2005; Rahmanzadeh et al., 2005; Tank et al., 2006; Liu et al., 2020）。

传统分类中，列当科为寄生草本类群。本研究中，隶属于广义玄参科的 11 属分散于列当科中。其中地黄属和呆白菜属为姐妹群，共同组成了列当科的基部类群，与 Albach 等（2009）基于叶绿体片段及 *ITS* 序列的结果一致。Olmstead 等（2001）基于 3 个叶绿体片段的研究结果表明钟萼草属、火焰草属、山罗花属和马先蒿属应从广义玄参科移出至列当科。Bennett & Mathews （2006）基于核基

因 *PHYA* 的研究结果表明松蒿属、阴行草属、小米草属应隶属于列当科。McNeal 等（2013）基于两个叶绿体片段及两个核基因的结果确定了胡麻草属在列当科内部的系统位置。

关于泡桐属的研究，Olmstead 等（2001）年的研究结果表明，泡桐属不属于玄参科也与紫葳科没有关系，支持其形成一个独立的支系。

关于美丽桐属的研究，Liu 等（2020）基于六个叶绿体基因，确定了美丽桐属在唇形目的位置，并建议成立美丽桐科。

肉果草属和通泉草属主要分布于亚洲的东部和东南部，在 Beardsley & Olmstead（2002）的研究中，建议将这两个属从玄参科移出，并入透骨草科，成为其中一个族（Mazoideae）；之后，Albach 等（2009）基于四个叶绿体片段及 *ITS* 序列的结果表明，肉果草属和通泉草属应从透骨草科移出；继之，Deng 等（2019）基于叶绿体及核基因数据结果支持通泉草科作为单系类群存在，其下包括肉果草属、通泉草属和野胡麻属三属。

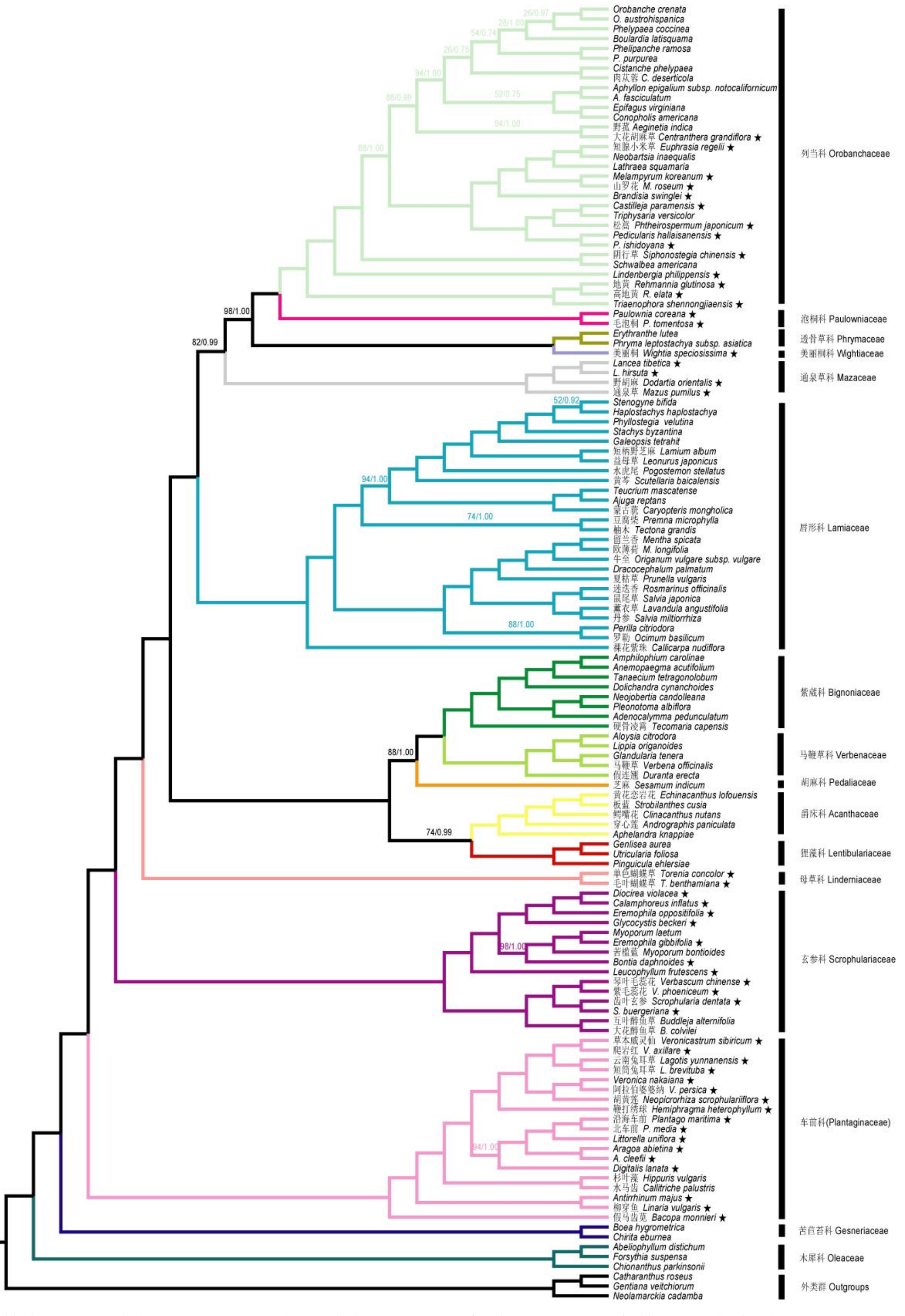
Olmstead 等（2001）的研究结果中，建议将 *Antirrhinum*、毛地黄属等类群从广义玄参科移出，形成 Veronicaceae；基于此研究结果，Albach 等（2005）进一步的研究建议将 Veronicaceae 修改成车前科（Plantaginaceae），而广义玄参科的 *Antirrhinum*、*Aragoa*、假马齿苋属、毛地黄属、鞭打绣球属、柳穿鱼属、*Littorella*、车前属、婆婆纳属、和腹水草属应隶属于车前科。兔耳草属和胡黄连属一直以来都被认为是车前科的成员，但在上述研究的采样中，均未包括在内，Zhang 等（2019）和 Cheng 等（2020）基于叶绿体基因组数据，支持这两个属隶属于车前科。

狭义玄参科内部的系统发育关系，与前人的研究结果基本一致（Oxelman et al., 2005; Tank et al., 2006），即 Buddlejeae 和 Scrophularieae 关系较近，Leucophylleae 和 Myoporeae 关系较近，支持率有所提高（BS=100，PP=1.00），鉴于本研究所取狭义玄参科种属较少，仅包括 8 族中的 4 族，物种数也较少，在此不作详细论述。

3.2 唇形目内部科间的系统发育关系

本研究中，广义玄参科的物种，分散于列当科、泡桐科、美丽桐科、通泉草科、母草科、狭义玄参科和车前科等七科，其中车前科为唇形目中较为基部的类

群，而列当科为进化的类群，因而一定程度上，关于广义玄参科的系统发育研究，与唇形目的系统发育研究是息息相关的。本研究中涉及唇形目 16 科，各科之间的关系与前人的研究结果基本一致，Liu 等（2020）基于六个叶绿体片段对唇形目美丽桐科的系统位置进行了研究并重建了整个唇形目的系统发育树，狭义玄参科为单系类群，获中等支持率（BS=78，PP=0.94），属于核心唇形目，其与车前科及 Stilbaceae、Byblidaceae+母草科等类群关系较近。本研究基于质体基因组数据获得的系统发育树的拓扑结构与 Liu 等（2020）的研究结果基本一致，但在支持率上有明显的提高，平均支持率为 96.06，支持率≥95 的分支占 86.82%，≥70 的分支占 95.35%，支持率低于 50 的分支均在唇形科内部。科间关系得到较好的解决，仅有的三处支持率低于 95 的分支，分别是紫葳科与马鞭草科+胡麻科形成的分支（BS=88，PP=1.00），爵床科和狸藻科形成的分支（BS=74，PP=1.00），和通泉草科所在这一分支（BS=82，PP=0.99），其系统发育关系有待进一步研究。



数字代表分支的靴代值 BS（第 1 个数值）/后验概率 PP（第 2 个数值）；靴代值为 100 且后验概率为 1.00 的不显示；★物种隶属于广义玄参科

Node are labeled with maximum likelihood bootstrap support（BS）（the first value） and Bayesian posterior probability （PP）（the second value）; Nodes with 100% bootstrap support in the

maximum likelihood analysis and 1.00 posterior probability in the Bayesian analysis are unlabeled; ★ indicate the species was originally placed in Scrophulariaceae s. l.

图 1 基于蛋白质编码基因构建的玄参科及其近缘类群的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of Scrophulariaceae and the closely related groups based on the protein-coding genes

参考文献:

ALBACH DC, MEUDT HM, OXELMAN B, 2005. Piecing together the "new" Plantaginaceae [J]. Amer J Bot, 92 （2）: 297-315.

ALBACH DC, YAN K, JENSEN SR, et al., 2009. Phylogenetic placement of *Triaenophora*（formerly Scrophulariaceae） with some implications for the phylogeny of Lamiales [J]. Taxon, 58（3）:749-756.

BEARDSLEY PM, OLMSTEAD RG, 2002. Redefining Phrymaceae: the placement of *Mimulus*, tribe Mimuleae, and *Phryma* [J]. Amer J Bot, 89（7）:1093-1102.

BENNETT JR, MATHEWS S, 2006. Phylogeny of the parasitic plant family Orobanchaceae inferred from phytochrome A [J]. Amer J Bot, 93（7）: 1039-1051.

CHENG JP, ZHANG YM, QIAN ZG, et al., 2020, Complete chloroplast genome sequences of *Lagotis yunnanensis*（Scrophulariaceae）: an Endangered species endemic to the Hengduan Mountains region [J]. Mitochondrial DNA Part B, 5（1）: 897-898.

CUSIMANO N, WICKE S. 2016. Massive intracellular gene transfer during plastid genome reduction in nongreen Orobanchaceae [J]. New Phytologist, 210（2）: 680-693.

DENG T, LIN N, HUANG X, et al., 2019. Phylogenetics of Mazaceae（Lamiales）, with special reference to intrageneric relationships within *Mazus* [J]. TAXON, 68（5）:1037-1047.

KATOH K, ROZEWICKI J, YAMADA KD, 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization [J]. Brief Bioinform, 20（4）:1160-1166.

KUMAR S, STECHER G, TAMURA K, 2016. MEGA7: Molecular evolutionary

genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. Mol Biol Evol, 33（7）:1870-1874.

LIU B, TAN YH, LIU S, et al., 2020. Phylogenetic relationships of *Cyrtandromoea* and *Wightia* revisited: A new tribe in Phrymaceae and a new family in Lamiales [J]. J Syst Evol, 58（1）: 1-17.

MCNEAL JR, BENNETT J R, WOLFE A D, et al., 2013. Phylogeny and origins of holoparasitism in Orobanchaceae [J]. Amer J Bot, 100（5）: 971-983.

MILLER MA, PFEIFFER WT, SCHWARTZ T, 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees [C]. 2010 Gateway Computing Environments Workshop（GCE 2010）. New Orleans: 1-8.

OLMSTEAD RG, DEPAMPHILIS CW, WOLFE AD, et al., 2001. Disintegration of the Scrophulariaceae [J]. Amer J Bot, 88（2）: 348-361

OLMSTEAD RG, REEVES PA, 1995. Evidence for the polyphyly of the Scrophulariaceae based on chloroplast *rbc*L and *ndh*F sequences [J]. Ann Miss Bot Gard, 82（2）:176-193.

OXELMAN B, KORNHALL P, OLMSTEAD RG, et al., 2005. Further disintegration of Scrophulariaceae [J]. Taxon, 54（2）: 411-425.

RAHMANZADEH R, MULLER K, FISCHER E, et al., 2005. The Linderniaceae and Gratiolaceae are further lineages distinct from the Scrophulariaceae（Lamiales）[J]. Plant Biol, 7（1）: 67-78.

RONQUIST F, HUELSENBECK JP, 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. Bioinformatics, 19（12）: 1572-1574.

ROURE B, BAURAIN D, PHILIPPE H, 2013. Impact of missing data on phylogenies inferred from empirical phylogenomic data sets [J]. Mol Biol Evol. 30（1）:197-214.

STAMATAKIS A, 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. Bioinformatics, 30（9）: 1312-1313.

TANK DC, BEARDSLEY PM, KELCHNER SA, et al., 2006. Review of the systematics of Scrophulariaceae s.l. and their current disposition [J]. Austral Syst

Bot, 19（4）: 289-307.

TRIPP EA, TSAI YH, ZHUANG YB, et al., 2017. RADseq dataset with 90% missing data fully resolves recent radiation of *Petalidium* （Acanthaceae） in the ultra-arid deserts of Namibia [J]. Ecol Evol, 7（19）:7920-7936.

WICKE S, SCHAFERHOFF B, DEPAMPHILIS CW, et al., 2013. Disproportional plastome-wide increase of substitution rates and relaxed purifying selection in genes of carnivorous Lentibulariaceae [J]. Mol Biol Evol, 31（3）:529-545.

ZHANG YM, QIAN ZG, ZHANG AL, et al., 2019. The complete plastid genome sequence of *Neopicrorhiza scrophulariiflora*（Plantaginaceae）: an endangered species endemic to The Himalayas regions [J]. Mitochondrial DNA B, 4（2）: 2504-2505.